

Отзыв

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, профессора Татарниковой Натальи Александровны на диссертационную работу Солдатова Дмитрия Алексеевича на тему «Белки теплового шока в диагностике и профилактике онкологических заболеваний», представленную в диссертационный совет 35.2.035.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология

Актуальность диссертационного исследования. В современной ветеринарной практике проблема точной и своевременной диагностики онкологической патологии приобретает особую значимость. Это связано с недостаточными сведениями об этиологии, патогенезе опухолей и отсутствием четких критериев ранней диагностики их у животных.

Важнейшая задача в диагностике онкологических заболеваний у животных – это минимальная инвазия. В этой связи представляют научный интерес онкомаркеры, которые помогают неинвазивным методом узнать о наличии опухолевых клеток, циркулирующих в кровяном русле животных. В гуманной медицине для этой цели используют белки теплового шока (белки теплового шока - это высококонсервативные внутриклеточные белки, которые участвуют в формировании белковой структуры в ответ на стресс или высокую температуру) в качестве биомаркеров для обнаружения опухолей на ранних

стадиях. Они могут применяться не только в диагностике, но и в иммунотерапии.

Белки теплового шока, входящие в состав противоопухолевых вакцин, способствуют тому, что злокачественные клетки сверхэкспрессируют опухолевые антигены, на которые может быть установлен Т-клеточный иммунный ответ, а одним из лучших стабилизаторов данных вакцин могут служить золотые наночастицы.

В связи с изложенным, исследования Солдатова Дмитрия Алексеевича, выполненные по этому вопросу, являются актуальными и позволили получить ценный материал для врачей, занимающихся проблемами ветеринарной онкологии.

Цель работы была достигнута тем, что Солдатов Дмитрий Алексеевич изучил особенности диагностики онкологической патологии у кошек с применением золотых наночастиц с белками теплового шока и разработал прототип тест системы для диагностики рака молочной железы у кошек. Автором диссертационного исследования разработан прототип тест системы для диагностики рака молочной железы у кошек. Обоснована возможность его применения животным. Соискателем доказана возможность прогнозирования развития опухолевого процесса у онкологически больных животных.

Новизна исследований и полученных результатов. Солдатовым Дмитрием Алексеевичем впервые в ветеринарной практике разработан прототип тест системы для диагностики рака молочной железы у кошек.

Обоснована важность его применения животным. Доказана возможность прогнозирования развития опухолевого процесса у онкологически больных

животных с помощью циркулирующих белков теплового шока в сыворотке крови и золотых наночастиц.

Теоретическая и практическая ценность работы. Автором проведены исследования по определению влияния конъюгата на основе наночастиц золота и белков теплового шока на опухолевые линии клеток. Определены онкопротекторные способности этого конъюгата на лабораторной модели. Результаты проведённых исследований могут служить теоретической и практической базой для создания диагностической тест системы к белкам теплового шока у онкологически больных животных и конструирования ветеринарного препарата на основе белков теплового шока для профилактики развития неоплазий у домашних животных.

Результаты диссертационной работы могут быть востребованы практикующими ветеринарными врачами в решении проблем онкологической патологии мелких домашних животных. Сведения, полученные автором, можно использовать научным работникам при проведении исследований, преподавателям в высших учебных заведениях в учебном процессе, а также при составлении пособий и справочников по болезням мелких домашних животных.

Степень достоверности, апробация и реализация результатов исследований. Достоверность полученных результатов подтверждается комплексностью и объемом проведенных исследований. Работа выполнена на достаточном количестве материала с использованием сертифицированного оборудования и последующей статистической обработкой.

Научной базой для исследований, проведенных в период с 2019 по 2023 год, служила кафедра «Болезни животных и ветеринарно–санитарная экспертиза» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики,

биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова». Ряд исследований были выполнены на базе ИБФРМ, которое является обособленным структурным подразделением ФИЦ СЦ РАН. Научно-производственные исследования проводились в условиях ветеринарных клиник для животных УНТЦ - 0 «Ветеринарный госпиталь», ветеринарный кабинет Солдатова Л. В. г. Саратов.

Основные результаты проведенных исследований доложены и **обсуждены на:** межвузовской научной студенческой конференции по морфологии и физиологии за 2020 год (г. Саратов); национальной научно-практической студенческой конференции «Актуальные вопросы морфологии, физиологии патоморфологии», посвященной 90-летию Заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора ветеринарных наук, профессора, Почетного работника ВПО РФ Демкина Григория Прокофьевича (2021 г., г. Саратов); конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2021 год (г. Саратов); международной научно-практической конференции «Современные научные тенденции в ветеринарии» (01 декабря 2022, г. Саратов); I этап Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по Приволжскому Федеральному округу в номинации «Биологические науки» (2021 г., г. Саратов); II этап Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по Приволжскому Федеральному округу в номинации «Биологические науки» (2021 г., г. Казань); международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора

ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Колесова Александра Михайловича (2021 г., г. Саратов). международной конференции «Современные проблемы ветеринарной фармации и патологии животных» (14 апреля 2022 г. Саратов); на конференции профессорского-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2022 год, посвященной 110-летию Вавиловского университета (15-17 февраля 2023 г; ФГБОУ ВО Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова).

Подтверждение опубликованных основных результатов в научной печати и соответствие автореферата диссертации. Основные положения диссертационной работы изложены в 11 научных публикациях, в том числе 3 в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, 3 – в изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus, глава в международной коллективной монографии. Получен патент №2798268 «Способ получения ветеринарного препарата на основе неспецифических иммуноглобулинов и коллоидных частиц селена для коррекции иммунной системы». Основные положения диссертации внедрены и используются в практической деятельности ветеринарных клиник города Саратова.

Автореферат Солдатова Д.А. изложен на 24 страницах, представляет собой краткое содержание основных материалов диссертационной работы и оформлен с учетом предъявляемых требований.

Оценка содержания диссертации. Диссертационная работа Солдатова Дмитрия Алексеевича «Белки теплового шока в диагностике и профилактике онкологических заболеваний», является законченной научной

квалификационной работой. Диссертация написана в научном стиле, изложена на 122 страницах компьютерного текста и построена по классическому образцу, включает содержание, введение, обзор литературы, собственные исследования, которые содержат материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследования, выводы, предложения и список использованной литературы, в котором 274 источника, в том числе 263 зарубежных. В тексте диссертации 1 таблица и 29 рисунков.

Во введении диссертации (страницы с 3 по 11) автор описывает актуальность выбранной темы исследования, степень разработанности проблемы, определяет цель работы, для реализации которой выдвигает 6 задач исследования. Так же во введении описаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость проведенных исследований, указана методология и методы исследования. Солдатовым Д.А. определены 3 положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы изложен на страницах с 11 по 35 и состоит из трех разделов. В разделе 2.1 диссертантом описана общая характеристика белков теплового шока, освещена их роль в поддержании белкового гомеостаза организма. В подразделе 2.1.2 изложен материал научных источников литературы об основных функциях шаперонов в организме человека, проанализированы их свойства. Подраздел 2.1.3 посвящен материалу по изучению пептидсвязывающей функции белков теплового шока, определена их важность для поддержания жизнеспособности клетки. Подраздел 2.1.4 достаточно подробно освещает роль шаперонов в поддержании внутриклеточного гомеостаза, этот материал изложен Дмитрием Алексеевичем с учетом ультраструктуры клеток организма. В подразделе 2.1.5 сделан акцент на белки теплового шока как биомаркеры онкологических заболеваний.

Оценена их роль в ранней диагностике опухолевого процесса. Раздел 2.2.1 описывает новообразования молочной железы у животных, соискатель Дмитрий Алексеевич проанализировал морфологические их особенности, акцентировав особое внимание на виды опухолей, имеющих наибольшее распространение. Раздел 2.3 излагает материал по характеристике наночастиц золота, которые используются в различных биомедицинских целях, в частности при диагностике и терапии онкологической патологии.

Обзор литературы написан хорошим литературным языком и читается легко. Приведенные в обзоре литературы сведения свидетельствуют о достаточной проработке автором изучаемых вопросов. Анализируя обзор литературы, можно заключить, что он в полной мере освещает имеющиеся сведения в научной литературе по поставленной проблеме и предполагает дальнейшие перспективы по изучению рассматриваемой тематики. В этом разделе Дмитрий Алексеевич провел подробный анализ отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертации. Хотелось бы указать, что резюме по обзору литературы отсутствует, хотя соискателю следовало бы подвести итог по изучению научных материалов для более глубокого осмысления поставленных задач и их значимости для науки в целом.

Раздел «Собственные исследования» изложен на 42 страницах с 36 по 78, содержит подробное описание исследований, проведенных автором, и включает несколько подразделов. В них представлены в развернутом виде результаты исследований. В подразделе 3.1. (стр.36-50) подробно освещены применяемые диссертантом методы исследования. Все описанные методы были использованы в строгом соответствии с поставленной целью исследования и задачами, стоящими перед соискателем. Задействованные соискателем методики по измерению исследуемых показателей, являются нормативно разработанными,

утвержденными и сертифицированными. Следует отметить, что работа Солдатовым Дмитрием Алексеевичем выполнялась не только на кафедре ФГБОУ ВО Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И.Вавилова, но и на базе ИБФРМ обособленного структурного подразделения ФИЦ СЦ РАН.

В последующих подразделах автор поэтапно решает поставленные задачи диссертационного исследования.

В подразделе 3.2 «Результаты исследований и их анализ» включаемом шесть подпунктов, содержатся результаты собственных исследований. Все полученные данные приведены в строгой логической последовательности по пунктам подразделов. Первый из них, посвящен изложению методики выделения антигена из онкологической линии клеток. Далее описывается получение конъюгатов наночастиц золота с белками теплового шока. После изучения свойств, полученных конъюгатов, соискатель приводит сведения об иммунологических свойствах белков теплового шока с наночастицами золота. Также Солдатовым Д.А., после проведенных опытов, предоставляются данные об онкопротекторных свойствах конъюгата, на лабораторной модели мышей, заражённых гепатомой мышшиной. Ценным в этом разделе работы представляется вывод автора о том, что повышенное продуцирование интерлейкинов свидетельствует об увеличенной воспалительной реакции, которая при злокачественной опухоли увеличивает ее рост. На последних этапах исследования осуществлялось выделение белков теплового шока из злокачественных опухолей молочной железы кошек (аденокарцинома) с последующей подробной характеристикой. Автором была наработана методика селекции фаговых антител к белкам теплового шока, и получены данные

методом ИФА с помощью сывороток крови от больных животных о наличии циркулирующих антигенов в крови.

Далее предлагается обсуждение проведенных исследований, где автор подробно и аргументировано, используя собственные результаты, полученные в результате проведенных исследований, ведет полемику с другими учеными, работающими в этой области. Достоинством работы являются представленные в диссертационные результаты, которые могут быть применены в ветеринарной практике при диагностике, профилактике и лечении онкологических заболеваний у мелких непродуктивных животных. Результаты исследований Дмитрия Алексеевича Солдатова следует использовать для дальнейших разработок диагностических тест систем на основе белков теплового шока и наночастиц золота.

Выводы и практические рекомендации логично завершают научное исследование, соответствуют цели и поставленным задачам работы и являются вполне обоснованными.

Рекомендации по использованию результатов научных исследований. Полученные автором результаты могут быть использованы практикующими ветеринарными врачами в решении проблем онкологической патологии у животных, преподавателями при проведении занятий в высших учебных заведениях и составлении пособий и справочников по болезням мелких домашних животных, научными работниками при проведении соответствующих исследований.

Оценивая диссертационную работу Солдатова Дмитрия Алексеевича на тему **«Белки теплового шока в диагностике и профилактике онкологических заболеваний»**, в целом положительно, хотелось бы указать ряд замечаний и получить разъяснения автора по следующим вопросам:

1. Белки теплового шока какой структуры применялись при иммунизации крыс для изучения иммунологических свойств конъюгатов?

2. С чем Вы связываете повышение пролиферативной активности лимфоцитов у крыс при их культивировании с белками теплового шока?

3. В чем преимущество использования рекомбинантных фаговых антител по сравнению с другими видами антител, используемых при диагностике?

4. Почему в своих исследованиях Вы выбрали в качестве носителя антигена наночастицы золота, использовали ли Вы другие виды наночастиц в своих работах?

5. С чем связана прогностическая и диагностическая роль белков теплового шока?

Представленные вопросы являются уточняющими, они не затрагивают основной сути проделанной работы и не снижают ее научную и практическую значимость. Диссертационное исследование носит заверченный характер и предполагает перспективы дальнейшей разработки решения данной проблемы. Опубликованные статьи отражают и конкретизируют основное содержание диссертации.

Заключение. По актуальности, научной новизне, объему проведенного исследования, глубине анализа полученных данных и их доказательности, совокупности использованных методов, научной и практической значимости полученных результатов диссертация на тему: «Белки теплового шока в диагностике и профилактике онкологических заболеваний», является

